

저베타지단백혈증을 보이는 한국인에서의 Apolipoprotein B 및 Apolipoprotein E 다형성 양상

김정호 · 임환섭* · 권오현

연세의대 진단검사의학교실, 관동의대 진단검사의학교실*

Polymorphisms of Apolipoprotein B and Apolipoprotein E in Hypobetalipoproteinemic Korean

Jeong-Ho Kim, M.D., Hwan Sub Lim, M.D.,* and Oh Hun Kwon, M.D.

Department of Laboratory Medicine, Yonsei University College of Medicine, Seoul; Department of Laboratory Medicine,*
Kwandong University College of Medicine, Gangneung, Korea

Background : Hypobetalipoproteinemia (HBL) is characterized by plasma concentration of low-density lipoprotein cholesterol below the fifth percentile in a healthy population. It has been suggested that HBL may be associated with apolipoprotein E (apoE) and apoB polymorphisms, such as apoB 8344 and apoB *EcoRI*.

Methods : Patients with HBL (n=51) and age-and- sex-matched healthy controls (n=136) were compared for apoE genotyping, apoB 8344 polymorphism and apoB *EcoRI* polymorphism. ApoE genotyping and apoB *EcoRI* polymorphism were determined by polymerase chain reaction (PCR) restriction fragment-length polymorphism. ApoB 8344 polymorphism was determined by the PCR-amplification refractory mutation system. We also searched truncated apoB with ECL western blotting in 23 HBL subjects.

Results : We could not find any truncated form of apoB. We found significant elevation of the apoE ϵ 2 allele frequency of 0.147 in HBL cases compared with 0.063 in healthy controls ($P=0.018$). The ApoB 8344 polymorphism showed no significant difference between the HBL and the normal control groups. There were no significant apoB *EcoRI* allele frequency differences between the HBL and the normal groups.

Conclusions : We could not find any relationship between HBL either with apoB 8344 or apoB *EcoRI* polymorphisms, but apoE ϵ 2 allele seemed to be associated with HBL in Koreans. (*Korean J Lab Med* 2002; 22: 388-94)

Key words : Hypobetalipoproteinemia, Apolipoprotein B, Apolipoprotein E, Polymorphism, ApoB 8344, *EcoRI*

서 론

접 수 : 2002년 9월 18일 접수번호 : KJCP1614
수정본접수 : 2002년 12월 27일
교 신 저 자 : 김 정 호
우 135-720 서울시 강남구 도곡동 146-92
영동세브란스병원 진단검사의학과
전화 : 02-3497-3532, Fax : 02-3462-9483
E-mail : jeongho@yumc.yonsei.ac.kr

*본 연구는 연세대학교 의과대학 1997년도 교수연구비(과제번호 1997-11호)로 이루어졌음.

저밀도지단백(low density lipoproteins, LDL)의 농도가 정상 대조군의 5 percentile 이하인 경우를 저베타지단백혈증(hypobetalipoproteinemia, HBL)이라 정의한다. 이러한 경우에 죽상 경화증에 의한 심장혈관계 질환의 위험율이 낮으나[1-3], 일부 환자에서는 운동계 혹은 신경계의 경한 장애와[3] 각종 압, 폐 질환 및 위, 장관계의 이환율이 정상인에 비하여 높은 것으로 알려

저 있다[4, 5]. HBL 중 가족력이 있는 경우에 가족성 저베타지단백혈증(Familial hypobetalipoproteinemia, FHBL)이라 하고, 이 중에서 이형접합체(heterozygotes)인 경우 대부분 건강하나 동형접합체(homozygotes)의 경우, 무베타지단백혈증(abetalipoproteinemia)과 구분할 수 없을 정도의 심각한 임상양상을 보인다[6]. 대부분의 FHBL 가계에서 아포지단백B (apolipoprotein B, apoB)의 절단형(truncated form) 외에는 다른 분자생물학적 원인이 아직 밝혀져 있지 않다. ApoB는 인체에서 apoB 100과 apoB 48의 두 가지 형태로 존재하며, 그 유전자는 2p23에 위치하고 있다[7, 8]. FHBL을 일으키는 apoB 절단형은 apoB 2에서부터 apoB 89까지 약 30종이 알려져 있으며[9-13], 이러한 변이는 apoB 100에 비해 분비 속도를 감소시키기 때문에 콜레스테롤치를 낮추는 것으로 알려져 있다[10, 11]. 이형접합체의 FHBL에서 절단형 apoB의 빈도는 서양인에서 5% 이하인 것으로 보고되었다[12, 13]. 노르웨이인 저콜레스테롤혈증 환자 71명의 apoB 유전자 exon 26을 검색한 결과, 코돈(codon) 2712의 8344C→T의 빈도가 정상대조군과 의미 있는 차이를 보였다[14, 15]. Framingham 심장연구에서도 HBL의 원인으로 절단형 apoB는 아주 희귀한 반면, apo E의 E2/E3 유전자형이 더 흔한 원인이 되는 것으로 보고하고 있다[13]. 한편, apoB에는 삽입, 소실, XbaI, EcoRI 다형성 등과 같은 여러 가지 DNA 다형성이 있다[16, 17]. XbaI 다형성은 LDL콜레스테롤치와는 관련성이 없는 것으로 보고되어 있다. 이에 비해 apoB EcoRI 다형성은 동맥경화증과 발병률과의 연관성이나 저콜레스테롤혈증과 apoB EcoRI와의 연관성이 보고된 바 있다[18, 19]. 본 연구에서는 apoB 절단형을 HBL 군에서 확인하고, HBL에서의 apoB 8344 및 apoB EcoRI의 다형성과 apoE의 유전자형을 분석하여 이들과 총콜레스테롤간의 관계를 규명하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 연구대상

1997년부터 1999년까지 영동세브란스병원 및 세브란스 건강증진센터 및 관동대 명지병원에 내원한 피검자의 검체 중 혈중 콜레스테롤치가 5 percentile 이하인 환자나 피검자를 대상으로 하였다. LDL콜레스테롤치가 5 percentile 이하인 군을 HBL군으로 판정하였는데, 우리나라 사람들의 성별 나이별 기준을 근거로 하였다[20]. LDL콜레스테롤치가 55 mg/dL 이하는 성별 나이에 관계 없이 모두 HBL에 해당하였다[20]. HBL은 최근 수년간의 콜레스테롤 검사상 일시적으로 낮게 나온 경우, 간경화, 저단백혈증, 각종 암 및 갑상선기능항진증 등으로 인한 일시적인 저콜레스테롤혈증인 경우는 제외하였다. 정상대조군은 성별, 연령상 통계학적 차이가 없는 건강인을 대상으로 하였다. 단, 당뇨병, 간 질환, 심장 혈관 질환, 빈혈 등 내과적 질환이 있는 자와 비정

상적인 간 효소치를 보이는 경우를 제외하고 건강인을 선정하였다. 결과적으로 HBL군은 51명, 정상대조군은 136명이었다.

2. 연구 방법

1) 혈중 지질검사 및 DNA 추출

피검자를 검체 채취 전 12-14시간 동안 금식 시킨 뒤, EDTA 시험관 및 항응고제 없는 시험관에 혈액을 채취하였다. 혈장을 분리한 뒤, 즉시 aprotinin (Sigma, St. Louis, MO, USA)을 첨가하여 단백질 분해를 최소화하였다. 환자의 혈청은 Hitachi 747 (Hitachi, Nagashi, Japan) 자동생화학분석기를 사용하여 총 콜레스테롤, 중성지방, 고밀도지단백(HDL)콜레스테롤을 효소법으로 측정하였으며, LDL콜레스테롤치는 Friedewald 공식으로 산출하였다[21]. DNA 추출은 Easy-DNA kit (Invitrogen BV, Gronigen, Netherlands)를 이용하였다.

2) ApoB 절단형 검사

ApoB 절단형 단백질검사는 aprotinin처리 혈액을 확보할 수 있었던 23명 환자에 대해 실시하였다. 먼저 gradient gel (2-6%)을 사용하여 전기영동법으로 분리한 다음, transfer cell에 전사한 후, C14 항체, apoB N말단 특이항체[22] 및 Anti-mouse antibody (Dako, Copenhagen, Denmark)를 사용하여 Electrochemiluminescence (ECL) Western 법으로 검출하였다. 양성 대조군으로는 apoB 40/89와, apoB 37, apoB 70.5, apoB 31, apoB 54.8 절단형 환자 검체를 사용하였다.

3) ApoE 다형성 검사

ApoE 다형성은 AflIII 및 HaeII 제한효소 처리 방법으로 분석하였다[23].

4) ApoB 8344 다형성 검사

Amplification refractory mutation system 원리를 사용하였다[24]. 사용한 primer는 Table 1과 같았다. PCR mixture C (Primer U, 0.6 μ M+Primer L, 0.1 μ M+Primer C, 0.2 μ M), PCR mixture T (Primer U, 0.6 μ M+Primer L, 0.1 μ M+Primer T, 0.2 μ M)에 환자의 검체를 각각 첨가하였다. 95°C에서 3분간 전변성 과정을 실시한 후, 94°C에서 40초간 변성, 60°C에서 30초간 결합, 72°C에서 30초간 뻗음 과정을 15회 반복 실시하였다. 그 후에 94°C에서 40초간 변성, 55°C에서 30초간 결합, 72°C에서 30초간 뻗음 과정을 25회 반복한 후, 마지막으로 72°C에서 5분간 반응시켜 1.5% agarose gel에서 apoB 8344 다형성을 관찰하였다.

5) ApoB EcoRI 다형성 검사

Table 1와 같은 oligonucleotide를 사용하여 apoB 부위를 증폭한 후에 EcoRI를 사용하여 제한효소 절편 길이 다형성(restric-

tion fragment length polymorphism)법으로 검사하였다[18].

3. 통계분석

통계분석은 SAS version 8.01 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA)를 사용하였다. 실험결과는 평균±표준편차로 표시하였고, group *t*검정 및 ANOVA검정을 하였다. 유전자형의 실험군과 정상대조군간의 차이는 카이 제곱 검정 또는 Fisher의 정확도 검정을 하여 *P* 값이 0.05 이하인 경우 유의한 것으로 간주하였다.

결 과

1. 대상군 특성

HBL군과 정상대조군간의 연령 및 성별의 차이는 없었다 (Table 2). Body mass index (BMI)의 경우, 남자에서만 HBL군이 정상대조군에 비하여 유의하게 낮았으나($P<0.012$), 여자에서는 유의한 차이가 없었다. 성별 간 중성지방치의 차이는 없었

Table 1. Synthetic oligonucleotide sequences used for apoB 8344 apoB *EcoRI* polymorphism

Name of oligonucleotide	Sequence	Codon Number
Primer U (sense)	5'-agatgcagaa cagtgagctgc-3'	(8161-8181)
Primer L (antisense)	5'-ttcagagccagcggattaatc-3'	(8602-8582)
Primer C (C-specific)	5'-gtggggaagctggaaattctg-3'	(8363-8344)
Primer T (T-specific)	5'-gtggggaagctggaaattcta-3'	(8363-8344)
BEcoRI-5'	5'-caccctgagagaagtgtctca-3'	(12413-12434)
BEcoRI-3'	5'-agtgcacaagttcctcctagtg-3'	(12782-12761)

다. HDL 콜레스테롤의 경우, 남자에서는 HBL군에서 유의하게 낮았으나($P<0.01$), 여자의 경우에는 유의한 차이가 없었다. 예상한 대로 총콜레스테롤치와 LDL콜레스테롤치는 HBL군에서 남녀 모두 유의하게 낮았다(Table 2).

2. ApoB 절단형 결과

HBL군 중에서 apoB 절단형을 발견할 수 없었다(Fig. 1). 이 중 Fig. 1A에서의 #9 검체에서는 apoB 40 절단형과 유사한 band가 관찰되었으나, 반복검사와(Fig. 1B, #6, #12) DNA 염기서열에서는 정상으로 판명되었다.

3. ApoE 다형성 결과

ApoE 다형성은 Fig. 2와 같은 양상을 보였다. ApoE 대립인자 비율은 Hardy Weinberg 평형을 이루었다($P=0.649$). ApoE 유전자형 비율은 HBL군과 정상대조군 간에서 유의한 차이가 없었으나, ApoE 대립인자는 HBL군에서 정상대조군과 유의한 차이를 보였고($P=0.018$), apoE $\epsilon 2$ 대립인자의 비율이 정상대조군에 비해 HBL군에서 높고, apoE $\epsilon 4$ 대립인자의 비율이 낮은 것을 알 수 있었다(Table 3).

4. ApoB 8344 다형성 결과

ApoB 8344 다형성의 양상은 Fig. 3과 같았다. ApoB 8344 다형성의 유전자형의 비율은 Hardy Weinberg 평형을 이루었고($P=0.994$), 남녀별 차이는 없었고($P=0.287$) HBL군과 정상대조군의 차이는 없었다(Table 4).

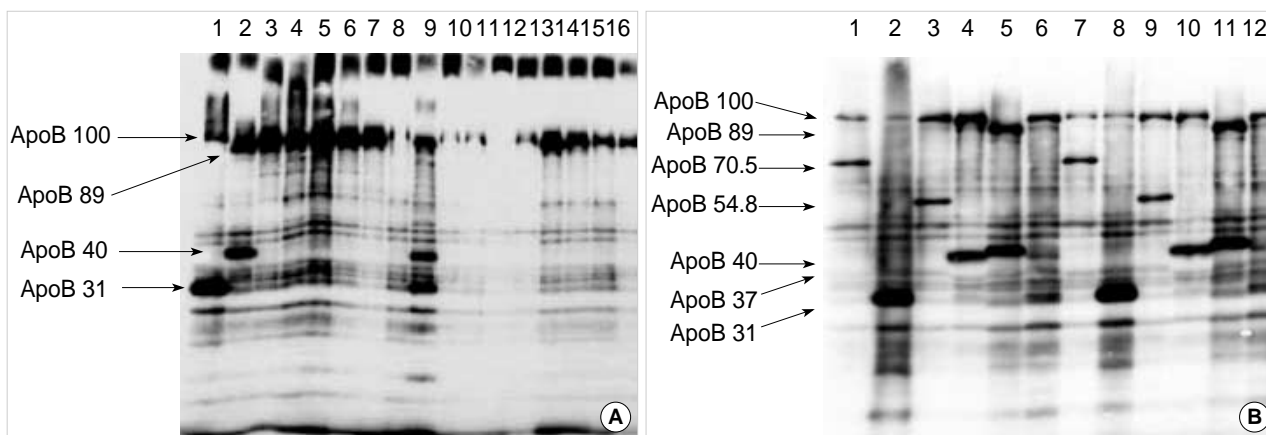


Fig. 1. Detection of truncated apoB by SDS-agarose gradient gel. (A) Known truncated apoB samples in lane #1 (apoB 31) and lane #2 (apoB 40/89) were run together with the apparent positive band in the sample of lane #9. (B) The apparent positive sample in lane #9 in Fig 1A was negative in lane #6 and #12 of repeated test. Known truncated apoB, either lane #1 or #7, apoB 70.5; either lane #2 or #8, apoB 31; either lane #3 or #9, apoB 54.8; either lane #4 or #10, apoB 37; either lane #5 or #11, apoB 40/89, compound heterozygotes; were run together with the apparent positive sample in lane #6 and #12.

Table 2. Demographics and lipid distribution of subjects

GROUP	Female* (n=76)			Male* (n=111)		
	HBL (n=20)	Normal (n=56)	P value	HBL (n=31)	Normal (n=80)	P value
Age	45.5±9.4	47.0±9.3	NS [†]	47.3±13.4	48.5±7.8	NS [†]
Body mass index, kg/m ²	21.5±3.1	22.7±2.5	NS [†]	22.3±2.8	24.0±2.2	<0.05
Total cholesterol, mg/dL	123.3±14.6	206.8±29.1	<0.001	125.4±10.1	203.6±25.6	<0.001
Triglyceride, mg/dL	120.8±75.1	103.0±51.5	NS [†]	103.7±47.5	117.6±46.4	NS [†]
HDL-Cholesterol, mg/dL	48.4±13.3	51.8±12.3	NS [†]	54.4±12.1	47.5±11.8	<0.01
LDL-Cholesterol, mg/dL	50.8±12.8	134.3±26.8	<0.001	50.3±15.0	132.5±23.0	<0.001

*Mean±SD (standard deviation). Sex ratio was not significantly different in both HBL and normal group ($\chi^2=0.059$, $P=0.808$). [†]NS, not significantly different.

Table 3. ApoE genotyping and allele frequencies of HBL cases and normal control

ApoE polymorphism*	HBL	Normal	Total	P value
2/2	2 (3.9%)	1 (0.7%)	3 (1.6%)	0.111
2/3	8 (15.7%)	13 (9.6%)	21 (11.2%)	
2/4	3 (5.9%)	2 (1.5%)	5 (2.7%)	
3/3	29 (56.9%)	82 (60.3%)	111 (59.4%)	
3/4	9 (17.7%)	37 (27.2%)	46 (24.6%)	
4/4	0 (0.0%)	1 (0.7%)	1 (0.5%)	0.018
Total	51	136	187 (100.0%)	
ε2 allele [†]	0.147	0.063	0.086	
ε3 allele [†]	0.765	0.794	0.786	
ε4 allele [†]	0.088	0.143	0.128	

*There was no significant difference among apoE genotype frequencies by Fisher's Exact Test (2-Tail). [†]There was significant difference among apoE allele frequencies by Fisher's Exact Test ($P<0.05$).

Table 4. ApoB 8344 polymorphism and allele frequencies

ApoB 8344 Polymorphism*	HBL	Normal	Total [†]	P value
C/C	4 (7.8%)	12 (9.2%)	16 (8.8%)	1.000
C/T	21 (41.2%)	54 (41.5%)	75 (41.4%)	
T/T	26 (51.0%)	64 (49.2%)	90 (49.7%)	
Total	51 (100.0%)	130 (100.0%)	181 (100.0%)	
C allele [‡]	0.284	0.300	0.296	
T allele [‡]	0.716	0.700	0.704	

*There was no significant difference among apoB 8344 genotype frequencies by Fisher's Exact Test (2-Tail). [†]ApoB 8344 polymorphism of six cases could not be determined due to sample loss. [‡]There was no significant difference among apoB 8344 allele frequencies by Fisher's Exact Test.

5. ApoB EcoRI 다형성 결과

ApoE EcoRI 다형성의 전기영동 양상은 Fig. 4와 같았고, Hardy Weinberg 평형을 이루었다($P=0.817$). HBL군과 정상 대조군에서 유전자형 빈도의 유의한 차이는 관찰되지 않았다 (Table 5).

Table 5. ApoB EcoRI polymorphism and allele frequencies of HBL and normal controls

ApoB EcoRI Polymorphism*	HBL	Normal	Total [†]	P value
R+/+	26 (92.9%)	125 (94.0%)	151 (93.8%)	0.686
R+/-	2 (7.1%)	8 (6.0%)	10 (6.2%)	
Total	28 (100.0%)	133 (100.0%)	161 (100.0%)	0.687
R+ allele [‡]	0.964	0.970	0.969	
R- allele [‡]	0.036	0.030	0.031	

*There were no significant difference among apoB EcoRI genotype frequencies by Fisher's Exact Test (2-Tail). [†]ApoB EcoRI polymorphism of twenty-six cases could not be determined due to sample loss. [‡]There were no significant difference among apoB EcoRI genotype frequencies by Fisher's Exact Test.

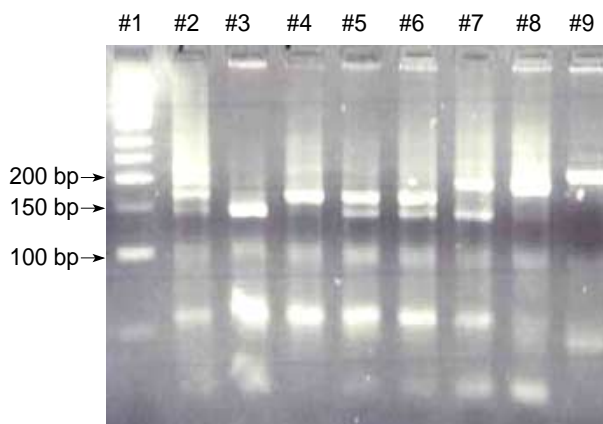


Fig. 2. Analysis of apoE genotyping with two restriction enzymes (*Afl*III, *Hae*II) on 3% agarose gel. Lane #1, 50-bp DNA Ladder Marker; Lane #2, apoE 2/4, 168-bp, 195-bp, 218-bp products; Lane #3, apoE 3/3, 145-bp products; Lane #4, apoE 2/2, 168-bp products; Lane #5 & #6, apoE 2/3, 145-bp, 168-bp products; Lane #7, apoE 2/4, 145-bp, 195-bp products; Lane #8, apoE 4/4, 195-bp, 195-bp, 218-bp products; Lane #9, uncut apoE 218-bp PCR products.

고 찰

저콜레스테롤혈증은 간경화, 저단백혈증, 각종 암 등으로 인한

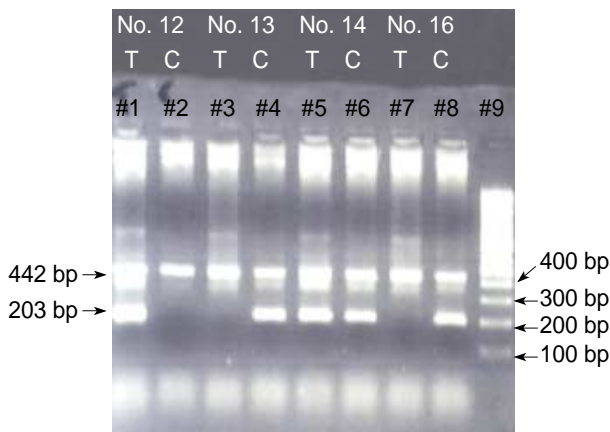


Fig. 3. Analysis of apoB 8344 polymorphism. Lane No #1, #3, #5, #7 used T-specific primer. Lane No #2, #4, #6, #8 used C-specific primer. Lane #9 showed 100-bp DNA ladder marker. No. 12 patient showed T/T polymorphism. No. 13 and No. 16 patients showed C/C polymorphism. No. 14 patient showed C/T polymorphism.

경우가 많으며[25], 유전적으로는 apoB 절단형이 가장 흔한 원인으로 서양인에서는 0.5-1.5%를 차지하는 것으로 알려져 있으나 [12, 13] 본 연구에서는 발견되지 않았다. 한편, ApoB 비절단형인 저콜레스테롤혈증에서는 apoE 유전자형과의 관련성이 보고되었는데 apoE 2/3의 비율이 정상인 10.9%에 비하여 HBL군에서 38.7%로 높았으며[13], Synder 등의 경우에는 각각 8.2% 및 28.9%였다[26]. 본 연구에서는 정상인이 9.6%, HBL군이 15.7%으로 약간의 차이가 있어 보였으나, 통계적 의미는 없었다. ApoE 유전형 대립인자 중 $\epsilon 2$ 는 제 3형 고지단백혈증과 관련이 있으며 지질의 수용체 결합 능력이 매우 감소되어 있는 것으로 알려져 있다[27]. 반면에 $\epsilon 4$ 는 지질의 수용체 결합능력은 정상이지만[27], 혈장 내 콜레스테롤 및 초저밀도지단백의 증가와 관련이 있는 것으로 알려져 있다[28, 29]. ApoE의 대사를 연구한 보고에 의하면, apoE4의 대사가 apoE3의 대사에 비해 증가되어 있다고 한다[30]. 한편, 콜레스테롤의 장 흡수율이 apoE $\epsilon 4$ 대립인자를 가지고 있는 사람이 제일 크고, apoE $\epsilon 2$ 를 가지고 있는 사람은 제일 적으며, apoE $\epsilon 3$ 는 중간 정도라는 보고도 있으며[30] apoE 다형성이 LDL콜레스테롤의 증감을 일으키는 원인으로 생각된다. 또한 apoE $\epsilon 4$ 대립인자는 총 콜레스테롤, LDL콜레스테롤 및 apoB 치의 증가와 관련이 있었다[16]. 반면에 apoE $\epsilon 2$ 대립인자는 LDL수용체에 대한 결합친화력을 감소시켜 세포 내로의 콜레스테롤의 운반을 저하시킨다. 이는 LDL수용체의 표현을 상향 조절하여 LDL의 대사를 증가시켜서 저콜레스테롤증을 유발하게 되며, apoE $\epsilon 4$ 대립인자는 $\epsilon 2$ 대립인자와는 서로 상반되는 작용하므로 $\epsilon 4$ 대립인자가 많은 경우에는 고콜레스테롤증이 유발되는 것으로 알려져 있다[31]. HBL의 경우 정상인에 비하여 apoE 2/3 유전자형이 3배 정도 많으며, apoE 3/4의 유전자형을 가진 HBL군의 50% 이상에서는 정상인보다 높은 LDL콜레스테롤치를 가진 것으로 보고된 바 있는데[13], 본

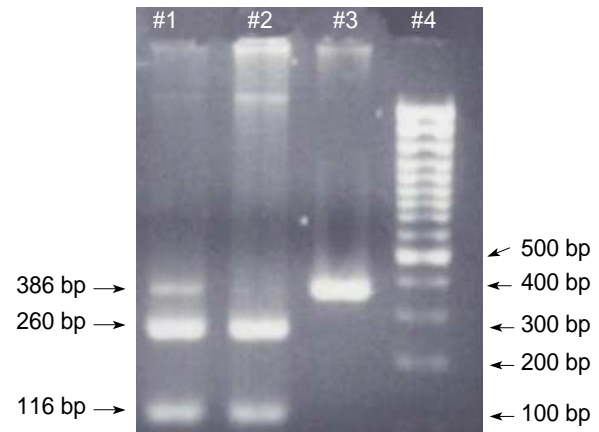


Fig. 4. Analysis of apoB *EcoRI* polymorphism. Lane #1 showed R+/-, Lane #2 showed R+/, Lane #3 showed uncut PCR product, Lane #4 100-bp DNA ladder marker.

연구에서는 비록 apoE2/3 유전자형의 통계학적 차이는 발견하지 못했지만, HBL군의 apoE $\epsilon 2$ 대립인자의 비율이 높고, apoE $\epsilon 4$ 대립인자의 비율이 낮게 나온 것은 Welty 등과 유사한 소견이었다[13]. Leren 등도 저콜레스테롤군과 고콜레스테롤군간의 apoE 유전자형 검사를 실시하여, 고콜레스테롤군보다 저콜레스테롤군에서의 apoE $\epsilon 2$ 대립인자의 발현 빈도가 의의 있게 높았으며, apoE $\epsilon 4$ 대립인자의 발현 빈도가 낮게 나타나는 것으로 보고하였다[14]. 본 연구에서 나타난 apoE 유전자형의 비율은 한국인 대상의 연구와 유사한 결과를 보였고[32], 구미의 연구 결과와도 별 차이가 없어서, 종전 연구 결과의 해석과 합치한다고 생각되었다[31].

본 연구는 apoB 절단형 검사를 모두 실시하지 못한 제한점이 있었다. 실제 apoB 절단형을 발견하여 이를 이번 연구 대상군에서 제외시켰다 할지라도, apo $\epsilon 2$ 대립유전자형이 저콜레스테롤혈증과 연관되어 있다는 본 실험 결과에 변화를 주지는 않을 것으로 생각된다. 한편, 대상군의 식생활 및 운동량을 조사하지 못한 것이 제한점이라 생각되었다. HBL군 중 남자에서는 BMI가 정상 대조군에 비하여 약간 감소되어 있었으나 큰 차이가 없었고, 여자에서는 HBL군과 정상 대조군 사이의 BMI차이가 없었다. Synder 등은 식생활 및 운동량으로 이렇게 지속적으로 낮은 콜레스테롤을 유지한다는 것은 곤란하다는 유사한 주장을 하였다[27]. 한편, Leren 등에서 유의한 차이를 보였던 apoB 8344는 본 연구에서 의미 있는 차이를 보이지 않았는데 이러한 차이는 Leren 등이 저콜레스테롤혈증과 고콜레스테롤혈증을 비교한데 비해[14], 본 연구에서는 고콜레스테롤혈증을 제외한 정상 대조군과 저콜레스테롤혈증을 비교한 차이에 기인한다고 생각된다. 다만, 서양인에서 C 대립인자(proline allele)가 83%, T 대립인자(leucine allele)가 17%로 조사되었으나[22], 한국인에서는 C 대립인자가 8.8%, T 대립인자가 91.2%로 상이한 결과를 보였다. ApoB *EcoRI* 다형성 결과는 HBL군에서는 통계학적 차이는 관찰되지 않았으며, 대립인자 빈도는 Pan 등이 보고한 것과 유사한

결과였다[33]. De Benedictus 등은 거주지역에 따른 apoB EcoRI 다형성에 차이가 있음을 보고하였다[18]. 즉, 이탈리아 남부에 거주하는 사람들은 R+/+, R+/-, R-/- 발현빈도가 각각 30.0%, 44.4%, 25.6%인 반면, 이탈리아 북부 거주자는 각각 65.2%, 28.3%, 6.5%로 보고한 바 있어서 종족간의 차이를 볼 수 있었으나[18], 중국인과 한국인 사이에는 큰 차이가 없는 것을 확인하였다[33].

결론적으로 HBL과 apoB 8344 및 apoB EcoRI 다형성간의 연관성은 본 연구에서 관찰할 수 없었으나, HBL과 apoE ϵ 2 대립인자와의 연관성을 확인할 수 있었다.

요 약

배경 : 저밀도지단백(low density lipoproteins, LDL)의 농도가 정상대조군의 5 percentile 이하인 저베타지단백혈증(hypobetalipoproteinemia, HBL)은 역학적으로 죽상 경화증에 의한 심장혈관계 질환의 위험률이 평균보다 낮으나, 일부 환자에서는 운동계 혹은 신경계로의 경한 장애와 각종 암, 폐 질환 및 위, 장관계의 이환율이 정상인에 비하여 높은 것으로 알려져 있다. HBL은 apoE 유전자형 및 apoB 8344 다형성, apoB EcoRI과 연관성이 있다는 보고가 있다.

방법 : 본 연구에서는 51명의 HBL군과 136명의 정상 대조군을 대상으로 apoE 유전자형, apoB 8344 다형성 및 apoB EcoRI 다형성 등을 비교 분석하였다. 또한 HBL군 23명에서 절단형 apoB 여부를 ECL Western법으로 검사하였다.

결과 : ApoB 절단형은 찾지 못하였다. ApoE 유전자 대립인자 ϵ 2의 비율은 HBL군에서 0.147로 대조군의 0.063보다 높았다. ($P=0.018$). 한편, apoB 8344 다형성의 비율은 HBL군과 정상대조군에서 유의한 차이가 없었다. ApoB EcoRI 다형성은 HBL군과 정상대조군 간의 차이는 없었다.

결론 : HBL과 apoB 8344와 apoB EcoRI 다형성간의 연관성은 관찰되지 않았으나, 한국인에서도 apoE ϵ 2 대립인자와 HBL의 유전적 연관성을 확인할 수 있었다.

감 사

ApoB N말단 특이항체(C1.4 항체) 및 apoB 40/89, apoB37 등 절단형 검체를 공여해 주신 미국 미주리주 Washington 의과대학 지질대사연구소 소장인 Gustav Schonfeld 교수에게 감사사를 드립니다. 이 논문을 쓰기까지 자문해 주신 생화학분자생물학교실의 안용호 교수님에게 감사를 드립니다. 연세대의 진단검사의학과 전공의 선생님들과 실험에 도움을 준 박영숙 박사님(한국로슈진단주식회사)과 남상민, 신정식 선생님에게도 감사사를 드립니다.

참고문헌

1. Glueck CJ, Gartside P, Fallat RW, Sielski J, Steiner PM. Longevity syndromes: familial hypobeta and familial hyperalpha lipoproteinemia. *J Lab Clin Med* 1976; 88: 941-57.
2. Stamler J, Dyer AR, Shekelle RB, Neaton J, Stamler R. Relationship of baseline major risk factors to coronary and all-cause mortality, and to longevity: findings from long-term follow-up of Chicago cohorts. *Cardiology* 1993; 82: 191-222.
3. Linton MF, Farese RV, Young SG. Familial hypobetalipoproteinemia. *J Lipid Res* 1993; 34: 521-41.
4. Iribarren C, Reed DM, Chen R, Yano K, Dwyer JH. Low serum cholesterol and mortality. Which is the cause and which is the effect? *Circulation* 1995; 92: 2396-403.
5. Sherwin RW, Wentworth DN, Cutler JA, Hulley SB, Kuller LH, Stamler J. Serum cholesterol levels and cancer mortality in 361, 662 men screened for the Multiple Risk Factor Intervention Trial. *JAMA* 1987; 257: 943-8.
6. Pessah M, Benlian P, Beucler I, Loux N, Schmitz J, Junien C, et al. Anderson's disease: genetic exclusion of the apolipoprotein-B gene in two families. *J Clin Invest* 1991; 87: 367-70.
7. Knott TJ, Rall SC, Innerarity TL, Jacobson SF, Urdea MS, Levy-Wilson B, et al. Human apolipoprotein B: structure of carboxyl-terminal domains, sites of gene expression, and chromosomal localization. *Science* 1985; 230: 37-43.
8. Carlsson P, Darnfors C, Olofsson SO, Bjursell G. Analysis of the human apolipoprotein B gene, complete structure of the B-74 region. *Gene* 1986; 49: 29-51.
9. Welty FK, Ordovas J, Schaefer EJ, Wilson PW, Young SG. Identification and molecular analysis of two apoB gene mutations causing low plasma cholesterol levels. *Circulation* 1995; 92: 2036-40.
10. Aguilar-Salinas CA, Barrett PH, Parhofer KG, Young SG, Tessereau D, Bateman J, et al. Apoprotein B-100 production is decreased in subjects heterozygous for truncations of apoprotein B. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1995; 15: 71-80.
11. Parhofer KG, Barrett PH, Aguilar-Salinas CA, Schonfeld G. Positive linear correlation between the length of truncated apolipoprotein B and its secretion rate: in vivo studies in human apoB-89, apoB-75, apoB-54.8 and apoB-31 heterozygotes. *J Lipid Res* 1996; 37: 844-52.
12. Wu J, Kim J, Li Q, Kwok PY, Cole TG, Cefalu B, et al. Known mutations of apoB account for only a small minority of hypobetalipoproteinemia. *J Lipid Res* 1999; 40: 955-9.
13. Welty FK, Lahoz C, Tucker KL, Ordovas JM, Wilson PW, Schaefer EJ. Frequency of apoB and apoE gene mutations as causes of hypobetalipoproteinemia in the framingham offspring population. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998; 18: 1745-51.
14. Lerer TP, Bakken KS, Hoel V, Hjermann I, Berg K. Screening for muta-

- tions of the apolipoprotein B gene causing hypocholesterolemia. *Hum Genet* 1998; 102: 44-9.
15. Huang LS, Gavish D, Breslow JL. Sequence polymorphism in the human apoB gene at position 8344. *Nucleic Acid Res* 1990; 18: 5922.
 16. Regis-Bailly A, Visvikis S, Steinmetz J, Feldmann L, Briancon S, Danchin N, et al. Frequencies of five genetic polymorphisms in coronarographed patients and effects on lipid levels in a supposedly healthy population. *Clin Genet* 1996; 50: 339-47.
 17. Boerwinkle E and Chan L. A three codon insertion/deletion polymorphism in the signal peptide region of the human apolipoprotein B (APO B) gene directly typed by the polymerase chain reaction. *Nucleic Acids Res* 1989; 17: 4003.
 18. De Benedictis G, Rose G, Mazzei R, Leone O, Crescibene L, Brancati C, et al. EcoRI-RFLP of the Apo B gene: a study in a sample group from South Italy. *Ann Hum Genet* 1991; 55: 103-13.
 19. Rajput-Williams J, Knott TJ, Wallis SC, Sweetnam P, Yarnell J, Cox N, et al. Variation of apolipoprotein-B gene is associated with obesity, high blood cholesterol levels, and increased risk of coronary heart disease. *Lancet* 1988; 2: 1442-6.
 20. Chun S, Min WK, Park H, Song J, Kim JQ, Min YI, et al. The risk groups for coronary heart disease in Koreans. Assessment by distribution of serum lipid concentrations. *Clin Chem Lab Med.* 1999; 37: 969-74.
 21. Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem* 1972; 18: 499-502.
 22. Krul ES, Kleinman Y, Kinoshita M, Pfleger B, Oida K, Law A, et al. Regional specificities of monoclonal anti-human apolipoprotein B antibodies. *J Lipid Res* 1988; 29: 937-47.
 23. Zivelin A, Rosenberg N, Peretz H, Amit Y, Kornbrot N, Seligsohn U. Improved method for genotyping apolipoprotein E polymorphisms by a PCR-based assay simultaneously utilizing two distinct restriction enzymes. *Clin Chem* 1997; 43: 1657-9.
 24. Newton CR, Graham A, Heptinstall LE, Powell SJ, Summers C, Kalsheker N, et al. Analysis of any point mutation in DNA. The amplification refractory mutation system (ARMS). *Nucleic Acids Res* 1989; 17: 2503-16.
 25. 전사일, 홍영준, 김진규. 저콜레스테롤혈증을 보이는 환자의 질병양상. *한국지질학회지* 1994; 4: 50-5.
 26. Synder SM, Terdiman JF, Caan B, Feingold KR, Hubl ST, Smith RS, et al. Relationship of apolipoprotein E phenotypes to hypocholesterolemia. *Am J Med* 1993; 95: 480-8.
 27. Weisgraber KH, Innerarity TL, Mahley RW. Abnormal lipoprotein receptor-binding activity of the human E apoprotein due to cysteine-arginine interchange at a single site. *J Biol Chem* 1982; 257: 2518-21.
 28. Weintraub MS, Eisenberg S, Breslow JL. Dietary fat clearance in normal subjects is regulated by genetic variation in apolipoprotein E. *J Clin Invest* 1987; 80: 1571-7.
 29. Gregg RE, Zech LA, Schaefer EJ, Stark D, Wilson D, Brewer HB. Abnormal in vivo metabolism of apolipoprotein E4 in humans. *J Clin Invest* 1986; 78: 815-21.
 30. Kesaniemi YA, Ehnholm C, Miettinen TA. Intestinal cholesterol absorption efficiency in man is related to apoprotein E phenotype. *J Clin Invest* 1987; 80: 578-81.
 31. Ehnholm C, Lukka M, Kuusi T, Nikkila E, Utermann G. Apolipoprotein E polymorphism in the Finnish population: gene frequencies and relation to lipoprotein concentrations. *J Lipid Res* 1986; 27: 227-35.
 32. 전사일, 김종원, 송정환, 김진규. 한국인의 아포지단백 E 유전형과 혈청 지질 성분과의 관련성. *대한임상병리학회지* 1996; 16: 613-21.
 33. Pan JP, Chiang AN, Tai JJ, Wang SP, Chang MS. Restriction fragment length polymorphisms of apolipoprotein B gene in Chinese population with coronary heart disease. *Clin Chem* 1995; 41: 424-9.